



TITLE:

Hbp1 regulates the timing of neuronal differentiation during cortical development by controlling cell cycle progression(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Watanabe, Naoki

CITATION:

Watanabe, Naoki. Hbp1 regulates the timing of neuronal differentiation during cortical development by controlling cell cycle progression. 京都大学, 2015, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2015-07-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19230>

RIGHT:

京都大学	博士 (医学)	氏 名	渡邊 直希
論文題目	Hbp1 regulates the timing of neuronal differentiation during cortical development by controlling cell cycle progression (大脳皮質形成期において Hbp1 は細胞周期進行の制御を介してニューロン分化のタイミングを制御する)		
(論文内容の要旨)			
<p>哺乳類の脳の発生過程において神経幹細胞は経時的にその性質を変化させ、多様な神経系細胞を産生する。大脳皮質の発生初期では脳室に面した脳室帯で神経幹細胞が対称分裂により自己増殖する。やがて神経幹細胞は非対称分裂し、娘細胞の一方は神経幹細胞として脳室帯に留まり、他方は、分裂を停止してニューロンに分化するか、ニューロンに運命決定された神経前駆細胞となる。この増殖から分化への移行タイミングを制御するメカニズムに関して、神経幹細胞の細胞周期が発生過程とともに長くなり、ニューロン分化促進因子が徐々に蓄積することが重要だと考えられているものの、その詳細は不明であった。</p> <p>胎生期神経幹細胞における遺伝子発現の経時的変化を解明するため、網羅的遺伝子発現解析を行ったところ、転写因子である <i>Hbp1</i> (<i>High mobility group box transcription factor 1</i>)の発現がニューロン産生期に増加し、神経幹細胞が局在する脳室周囲帯で強く発現することを発見した。子宮内電気穿孔法による <i>Hbp1</i> の強制発現及びノックダウン解析から、<i>Hbp1</i> はニューロン分化を促進する機能を持つことが示唆された。</p> <p>大脳皮質発生期を通した <i>Hbp1</i> の機能解析のため <i>Hbp1</i> floxed マウスを作製し、<i>Nestin-CreER^{T2}</i> マウスとの交配を行い、タモキシフェン投与により任意の時期に神経幹細胞/前駆細胞特異的な <i>Hbp1</i> のコンディショナルノックアウトを誘導可能なマウス (<i>Hbp1</i> icKO)を作製した。icKO では大脳皮質発生初期において神経前駆細胞及びニューロン産生が減少しており、神経幹細胞からの神経前駆細胞及びニューロン産生開始の遅延が示唆された。さらに細胞分裂後の細胞運命追跡のため EdU 投与の 12 時間後に解析したところ、初期では icKO で野生型より多くの神経幹細胞が対称分裂により増殖していた。icKO では神経幹細胞の対称分裂の維持により脳室が顕著に拡張し脳室帯が引き伸ばされ、大脳皮質が菲薄化した。後期では icKO で神経幹細胞/前駆細胞は急減し、脳室帯/脳室下帯がさらに菲薄化し、浅層/深層ニューロンの数が減少した。以上の結果から、<i>Hbp1</i> icKO では神経幹細胞の維持と拡大の長期化によりニューロン産生開始が遅延する一方、後期での神経幹細胞/前駆細胞の早期の枯渇により活発なニューロン産生時期が短縮され、大脳皮質の菲薄化を招いたと考えられた。</p> <p><i>in situ</i> ハイブリダイゼーション及びリアルタイム RT-PCR において、icKO ではニューロン分化を促進する bHLH 型転写因子 <i>Neurogenin 2</i> 及び <i>Neurod1</i> の発現増加が認められたが、ニューロン増加は観察されなかったため、細胞増殖と分化に関して更なる解析を行った。2 種類のチミジンアナログ BrdU と EdU の二重標識により細胞周期の長さを算出したところ、icKO では神経幹細胞/前駆細胞における細胞周期が 2~4 時間(約 30%)短縮しており、神経幹細胞の増殖加速化による増殖から分化への移行時期の遅延が示唆された。さらに icKO の細胞増殖帯で <i>cyclin D1</i> の発現増加を認め、レポーターアッセイの結果、<i>Hbp1</i> が <i>cyclin D1</i> のプロモーター活性を抑制することが示された。</p> <p>以上の結果から、大脳皮質形成過程において <i>Hbp1</i> は細胞周期を延長することにより神経幹細胞の増殖から分化への移行タイミングを制御する因子であることが示された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)
<p>大脳皮質形成過程において、神経幹細胞は経時的にその性質を変化させ、多様な神経系細胞を産生する。その際の神経幹細胞の増殖・維持からニューロン産生への移行タイミングの制御には、発生進行に伴う細胞周期の延長とニューロン分化促進因子の緩やかな蓄積が重要視されているものの、その分子機序は不明であった。</p> <p>大脳皮質形成期を通じた神経幹細胞の網羅的遺伝子発現解析により、<i>Hbp1</i> が神経幹/前駆細胞特異的に発現し、その発現量はニューロン産生期に増加することを発見した。子宮内電気穿孔法による <i>Hbp1</i> の強制発現及びノックダウン解析により、Hbp1 のニューロン分化促進機能が示唆された。さらに神経幹/前駆細胞特異的な <i>Hbp1</i> 欠損の誘導により、神経幹細胞の維持と増殖の長期化、細胞周期の加速化、<i>cyclin D1</i> 等の発現増加に伴う脳室帯の伸長及び脳室の拡大が認められ、ニューロン産生開始が遅延する一方、神経発生後期での神経幹/前駆細胞の早期の枯渇により活発なニューロン産生時期が短縮され、大脳皮質の菲薄化を招くことが示された。</p> <p>以上より、Hbp1 は細胞周期を延長することにより神経幹細胞の増殖から分化への移行のタイミングを制御することが明らかにされた。</p> <p>以上の研究は、適切な神経系細胞の供給を可能にするために必要となる神経幹細胞の性質変化及び分化制御機構の解明に貢献し、神経発生学研究の発展に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 2 7 年 6 月 2 6 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日： 平成 年 月 日 以降